

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УО «ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
ОРДЕНА ДРУЖБЫ НАРОДОВ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

# **ДОСТИЖЕНИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ, КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ И ФАРМАЦИИ**

Материалы 69-ой научной сессии сотрудников университета

29-30 января 2014 года

УДК 616+615.1+378  
ББК 5Я431+52.82я431  
Д 70

**Редактор:**

Профессор, доктор медицинских наук В.П. Дейкало

**Заместитель редактора:**

доцент, кандидат медицинских наук С.А. Сушков

**Редакционный совет:**

Профессор В.Я. Бекиш, профессор Г.Н. Бузук,  
профессор С.Н. Занько, профессор В.И. Козловский,  
профессор Н.Ю. Коневалова, д.п.н. З.С. Кунцевич,  
д.м.н. Л.М. Немцов, профессор В.П. Подпалов,  
профессор М.Г. Сачек, профессор В.М. Семенов,  
доцент Ю.В. Алексеенко, доцент С.А. Кабанова,  
доцент Л.Е. Криштопов, доцент С.П. Кулик,  
ст. преп. Л.Н. Каныгина.

ISBN 978-985-466-694-5

Представленные в рецензируемом сборнике материалы посвящены проблемам биологии, медицины, фармации, организации здравоохранения, а также вопросам социально-гуманитарных наук, физической культуры и высшей школы. Включены статьи ведущих и молодых ученых ВГМУ и специалистов практического здравоохранения.

УДК 616+615.1+378  
ББК 5Я431+52.82я431

ISBN 978-985-466-694-5

© УО “Витебский государственный  
медицинский университет”, 2014

# ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ

## ИЗМЕНЕНИЕ ФЕНОТИПА ЛЕЙКОЦИТОВ ПОСЛЕ ИНКУБАЦИИ С ПИЩЕВЫМИ КРАСИТЕЛЯМИ

Аляхнович Н.С.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

**Актуальность.** В настоящее время накапливается все больше данных о роли Т-клеточного (Т-кл.) распознавания в запуске аллергических реакций (АР). Выделены Т-кл. клоны, сенсibilизированные к определенным эпитопам таких небольших молекул, как лидокаин и бета-лактамы, которые могут запускать АР замедленного типа и/или синтез антител. В этом случае происходит активация сенсibilизированных Т-лимфоцитов (Т-л), их пролиферация, дифференцировка и усиление синтеза и секреции ими цитокинов. С помощью специфических тестов (исследование изменения экспрессии молекул активации на их поверхности) можно выявить сенсibilизацию организма к целому ряду полноценных аллергенов (белкам, полисахаридам, пептидам), а также к простым веществам-гаптенам (антибиотики, другие лекарства) [1]. Аллергия на широко

распространенные сегодня синтетические пищевые красители, являющимися гаптенами, может выявляться теми же методами, что и АР на лекарства.

Запуск пролиферативного ответа Т-л – многокаскадный процесс с ключевой ролью экспрессии Т-кл. ростового фактора интерлейкина-2 (ИЛ-2) и его рецептора (рец.). CD25 является  $\alpha$ -цепью рец. к ИЛ-2, который связывается с CD122 на покоящихся лимфоцитах крови и формирует гетеродимер, работающий как высокоаффинный рец. к ИЛ-2 [2].

CD69 – ранний антиген активации Т-л – участвует в их пролиферации, функционирует как рец. переноса сигнала в лимфоцитах, натуральных киллерах (НК) и тромбоцитах. CD38, гликопротеин, является маркером активации клетки, находится на поверхности иммунных клеток, включая CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, В-лимфоцитах и НК. CD38 участвует в адгезии клеток, проведении сигнала в клетку и ответе на проникновение кальция.

**Цель.** Определить изменение фенотипа лейкоцитов после инкубации с различными концентрациями пищевых красителей.

**Материал и методы.** В марте 2013 года 7 пациентов аллергологического отделения ВОКБ обследованы по поводу аллергии на пищевые красители (Таблица 1).

Определялась экспрессия рец. CD69, CD25, CD38 и их сочетаний на Т-кл. под влиянием пищевого красителя тартразина. Гепаринизированная кровь (из расчета 20 ЕД гепарина на 1 мл крови) 500 мкл инкубировалась в течение 24 часов с 40 мкл физиологического (физ.) раствора (р-ра), с 40 мкл 0,01% р-ра тартразина, с 40 мкл 0,001% р-ра тартразина, с 40 мкл 2% р-ра конконавалина. 0,001% р-р расценивался как рабочая концентрация (РК) красителя для пищевых продуктов, 0,01% р-р – как предельно допустимая концентрация (ПДК), исходя из допустимых норм потребления тартразина – 7,5 мг/кг массы тела [Санитарные правила и нормы 13-10 РБ 2002, утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 28.11.02 г. № 94].

Повышением экспрессии рец. считалось увеличение относительного и абсолютного количества Т-л с данным рец. в пробах с 0,001% р-ром, 0,01% р-ром красителя, по сравнению с пробой с физ. р-ром; уменьшением экспрессии – обратная тенденция.

Определение уровня экспрессии исследуемых CD-молекул на Т-л в каждой из проб осуществляли методом прямой иммунофлюоресценции на проточном цитофлюориметре с применением поверхностных антигенспецифичных моноклональных антител к дифференцировочным клеточным антигенам, конъюгированные с флюорохромами. Популяции и субпопуляции Т-л оценивали в гейте лимфоцитов. В пробе анализировали не менее 30 000 клеток. Абсолютное количество Т-кл. в 1 мкл крови рассчитывали относительно абсолютного числа лимфоцитов, принимаемого за 100% [3]. Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 6.0.

**Результаты и обсуждение.** Результаты фенотипирования Т-кл. по CD69, CD25, CD38 и их сочетаниям представлены в таблице 1.

Таким образом, Т-л 3-х человек (43%) реагировали снижением всех исследуемых CD-маркеров, все они отмечали реакции и непереносимость пищевых красителей в анамнезе, Т-л 2-х человек (29%) отреагировали повышением экспрессии рец.,

Таблица 1. Характеристика обследованных пациентов

№	Возраст	Диагноз	Аллергоанамнез по пищевым красителям	Пол
1	24	Поллиноз. Аллергический ринит	Неотягощен (0)	м
2	52	БА, пищевая аллергия	Отягощен (1)	ж
3	53	БА, пищевая, лекарств. аллергия	Отягощен (1)	ж
4	49	БА, аспириновая триада	Неотягощен (0)	ж
5	37	БА, аспириновая триада	Неотягощен (0)	ж
6	52	Предастма. Аллергический ринит	Отягощен (1)	ж
7	26	БА, пищевая аллергия	Неотягощен (0)	ж

Таблица 2. Экспрессия рецепторов на лимфоцитах пациентов

	CD69	CD25	CD38 10 <sup>0</sup>	CD38 10 <sup>1</sup>	CD25CD38	CD69CD25	CD69CD38
1	+	+	=	+	=	=	+
2	-	-	=	-	=	-	-
3	=	+	+	=	=	-	=
4	+	-	=	-	=	=	+
5	-	-	=	-	=	-	=
6	-	-	-	-	-	=	=
7	+	+	=	+	=	=	=

+ увеличение процента Т-л, экспрессирующих данный кластер дифференцировки, в порядке физ. р-р - РК красителя - ПДК красителя; - уменьшение процента Т-л, экспрессирующих данный кластер дифференцировки, в порядке физ. р-р - РК красителя - ПДК красителя; = разнонаправленные изменения или отсутствие изменений в экспрессии.

эти пациенты имели высокую сенсibilизацию к пищевым, бытовым и пыльцевым аллергенам по результатам кожных проб, но отрицали клинические проявления непереносимости пищевых красителей. Т-л 2-х пациентов (28%) разнонаправлено изменили экспрессию CD-молекул.

Установлена достоверная обратная корреляция между изменением экспрессии CD69 и аллергоанмезом по пищевым красителям: с неотягощенным – увеличивалась, с отягощенным – уменьшалась (корреляция Спирмена,  $r=0,039$ ). Установлена достоверная корреляция между изменением экспрессии CD69 ( $p=0,025$ ) и CD38 ( $p=0,005$ ) и возрастом: у молодых пациентов – увеличивалась, у остальных – снижалась.

Проведенные ранее исследования выявления сенсibilизации лимфоцитов к аллергену по изменению экспрессии CD25-молекул с помощью стабильного анти-CD25-диагностикума на основе моноклональных антител к  $\alpha$ -цепи ИЛ-2-рец. после инкубации с аллергеном согласуются с полученными результатами. У больных аллергическими заболеваниями исходный уровень лимфоцитов, несущих CD25-рец., был выше, чем у контрольной группы пациентов. 0,02% раствор тартразина достоверно чаще вызывал угнетение, чем стимуляцию CD25-цепи на лимфоцитах после инкубации через 30 минут; через 24 часа ингибирующий и стимулирующий эффект проявлялся у одинакового числа больных. 0,001% р-р тартразина чаще вызывал угнетение как после 30 минут, так и после 24 часов инкубации, что связано с предшествующей повышенной экспрессией CD25-рец. на лимфоцитах [4].

**Выводы:** 1. Эффекты влияния пищевых красителей на фенотип лимфоцитов зависят от концен-

трации красителей, времени инкубации и рецепторно-метаболических особенностей лейкоцитов конкретных больных.

2. Повышение экспрессии CD69- и CD38-молекул под влиянием инкубации с пищевыми красителями на лимфоцитах лиц, отрицающих непереносимость пищевых добавок, вероятно, связано с первым контактом Т-л. с данным антигеном.

3. Снижение экспрессии CD25-, CD69-, CD38-молекул на лимфоцитах лиц, отмечающих АР на пищевые красители, указывает на наличие сенсibilизации к красителям и о защитной роли данного механизма против избыточной активации Т-л. в ответ на знакомый антиген.

### Литература

1. Диагностика лекарственной аллергии / П.Д. Новиков, Д.К. Новиков, Ю.В. Сергеев // Научная сеть [Электронный ресурс]. – Научные статьи, 2009. – Режим доступа: <http://nature.web.ru/>. – Дата доступа: 30.09.2013.
2. Динамика экспрессии CD25 в лимфоцитах периферической крови человека / В.В. Зенин, Н.Д. Аксенов, А.Н. Шатрова и др. // Цитология. – 2009. – Т. 51. – №6. – С. 506-510.
3. Естественные регуляторные Т-клетки и цитокины у больных с разными уровнями контроля бронхиальной астмы / Ж.В. Антонович, В.П. Царев, Н.В. Гончарова // Здоровоохранение. – 2010. – 1. – С. 4-11.
4. Титова, Н.Д. Иммунодиагностика и иммунотерапия аллергии, индуцированной структурно разными видами аллергенов: дис. ... д-ра мед. наук. Бел. мед. академия последипл. образования, Витебск, 2011.

## ДЕСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩАЯ ТЕРАПИЯ ХОЛОДОВОЙ КРАПИВНИЦЫ АУТОСЫВОРОТКОЙ С ДОБАВЛЕНИЕМ ГИСТАМИНА

*Величинская О. Г., Новиков Д.К.*

*УО «Витебский государственный медицинский университет»*

**Актуальность.** Холодовая крапивница (ХК) — синдром, который характеризуется появлением волдырей и/или отека Квинке в результате воздействия холодных предметов, воздуха, холодной воды, или ветра, приема холодных продуктов и напитков [1]. Относится к одному из подтипов

физической крапивницы [2]. Распространенность холодовой крапивницы составляет 0,05% от общей численности населения [3].

Важно отметить, что системные анафилактические реакции подобные шоку, распространены у пациентов с холодовой крапивницей, и происходят